Iranian Journal of Animal Science Research
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

Research Article
Vol. 16, No.4, 2025, p. 543-554

Identification of Positive Selection Signatures Associated and Bioinformatic Analysis with Milk and Composition Traits in Murciano-Granadina and Barki

Hossein Mohammadi[1*], Amir Hossein Khaltabadi Farahani [2], Mohammad Hossein Moradi [2]

1 –Assistant professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, Iran.
2 –Associate professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, Iran.
*Corresponding Author's Email: H-mohammadi64@araku.ac.ir

Received: 03-04-2024 Revised: 06-06-2024 Accepted: 24-06-2024 Available Online: 29-01-2025	**How to cite this article:** Mohammadi, H., Khaltabadi Farahani, A.M. & Moradi, M.H. (2025). Identification of positive selection signatures associated and bioinformatic analysis with milk and composition traits in Murciano-Granadina and Barki. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *16*(4),543-554. (in Persian with English abstract) http://doi.org/10.22067/ijasr.2024.87463.1196

Introduction: Understanding the genomic features of livestock is essential for successful breeding programs and conservation. Artificial selection is one of the major forces modifying the genetic composition of livestock populations. The identification of selection targeted genomic regions is one of the main aims of biological research. Domestication and selection have significantly changed the behavioral and phenotypic traits in modern domestic animals. The selection of animals by humans left detectable signatures on the genome of modern goat. Understanding the genomic features of livestock is essential for successful breeding programs and conservation. Artificial selection is one of the major forces modifying the genetic composition of livestock populations. Identifying genes under selection could be useful to elucidate their impact on phenotypic variation. Over the last decade, interest in the detection of genes or genomic regions that are targeted by selection has been growing. Identifying signatures of selection can provide valuable insights about the genes or genomic regions that are or have been under selection pressure, which in turn leads to a better understanding of genotype-phenotype relationships. This study aimed to identify effective genes and genomic regions on positive signature of selection in Murciano-Granadina and Barki goats using selection signature method.

Materials and Methods: In this study, data from 923 Murciano-Granadina and 68 Barki goats genotyped using Caprine 50 K Bead Chip were used to identify genomic regions under selection associated with important traits. Quality control measures were performed in Plink by setting an animal call rate of 0.90, SNP call rate of 0.95, and SNPs with minor allele frequencies (MAF) lower than 0.05 or that do not conform to the Hardy–Weinberg expectation (P value $\leq$ 0.000001) and unknown position. After quality control of the initial data using Plink software (v1.90; http://pngu.mgh.harvard.edu/purcell/plink), 43,170 SNP markers were finally entered for further analysis. To identify the signatures of selection, the statistical method F_{ST} was used under R software packages. Candidate genes were identified by SNPs located at 1% upper range of F_{ST} using Plink v1.9 software and the gene list of Illumina in R. Additionally, the latest published version of animal genome database was used for defining QTLs associated with economically important traits in identified locations. GeneCards (http://www.genecards.org) and UniProtKB (http://www.uniprot.org) databases were also used to interpret the function of the obtained genes.

©2023 The author(s). This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0), which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source.

http://doi.org/10.22067/ijasr.2024.87463.1196

Results and Discussion: Using F_{ST} approach, we identified seven genomic regions on chromosomes 4, 6, 14, 15 (two regions per chromosome), 17, and 23 chromosomes. Candidate genes were detected. Some of the genes located in identified regions under selection were associated with milk yield, fat yield and fat metabolism, milk protein percentage and cholesterol milk content. Some of the genes under selection were found to be consistent with some previous studies.Results of gene ontology analysis identified two biological pathways namely skeletal system development and calcium channel complex with two important KEGG pathways including glucagon signaling pathway and AMPK signaling pathway which play an important role in glucose metabolism and homeostasis and skeletal system development.

Conclusion: Various genes identified within these regions can be considered potential candidates under selection based on their functions. Many of these genes were found to align with previous studies and are involved in processes such as milk yield and metabolic pathways. Additionally, an analysis of the extracted QTLs revealed their association with economically important traits in goats, including milk yield and composition traits. However, further association and functional studies are necessary to confirm the roles of these genes and to investigate QTLs related to the selected regions. These studies will be crucial to fully understand the implications of the genes identified through association analyses. Using these findings can accelerate the genetic progress in the breeding programs and can be used to understand the genetic mechanism controlling this trait. The results of our research can be used to understand the genetic mechanism controlling milk and composition traits and considering, this study supported previous results from genome scan of production traits, also revealed additional regions, using these findings could potentially be useful for genetic selection in goat for better milk yield.

Keywords: Candidate gene, F_{ST} statistics, Goat, Milk performance, Selection footprint

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۱۶، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۳، ص. ۵۵۴-۵۴۳

شناسایی نشانه‌های انتخاب مثبت و مطالعه بیوانفورماتیکی مرتبط با تولید و ترکیبات شیر در بزهای نژاد مورسیانو-گرانادینا و بارکی

حسین محمدی[1]*، امیرحسین فراهانی خلت آبادی[2]، محمد حسین مرادی[2]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۱۵
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۴/۰۴

چکیده

انتخاب‌های طبیعی و مصنوعی تغییرات مهمی را در ژنوم بزهای امروزی به‌جا گذاشته‌اند که شناسایی این نشانه‌ها می‌توانند به‌عنوان ابزاری در اصلاح و بهبود ژنتیکی این حیوانات استفاده شود. هدف از این مطالعه، شناسایی ژن‌های کاندیدا و مناطق ژنومی تحت انتخاب مثبت در بزهای نژاد مورسیانو-گرانادینا و بارکی از طریق روش‌های شناسایی ردپای انتخاب می‌باشد. در این پژوهش، اطلاعات ژنوتیپی مربوط به ۹۲۳ رأس بزهای نژاد مورسیانو-گرانادینا و ۶۸ رأس بزهای بارکی تعیین ژنوتیپ شده توسط آرایه‌های Caprine 50K به‌ترتیب از پایگاه‌های برخط Figshare و Dryad استفاده گردید. پس از اجرای مراحل مختلف کنترل کیفیت داده‌ها، برای شناسایی نشانه‌های انتخاب از روش آماری F_{ST} به‌وسیله برنامه R استفاده شد. ژن‌های کاندیدا با استفاده از SNPهایی که در بازه ۰/۱ درصد بالای ارزش F_{ST}، واقع شده بودند با استفاده از برنامه BioMart شناسایی شدند. برای بررسی وجود QTLهای مربوط به صفات مهم اقتصادی در مناطق شناسایی شده معنی‌دار، از آخرین نسخه منتشر شده پایگاه Animal genome استفاده شد. در نهایت، برای تفسیر بهتر عملکرد ژن‌های به‌دست آمده از پایگاه‌های اطلاعاتی آنلاین GeneCards و UniProtKB استفاده شد. نتایج این پژوهش منجر به شناسایی هفت ناحیه ژنومی بر روی کروموزوم‌های ۴، ۶، ۱۴، ۱۵ (دو نقطه)، ۱۷و ۲۳ با بالاترین ارزش آماره F_{ST} شد. ژن‌های شناسایی شده در مناطق مورد انتخاب شامل IGFBP3، ADCY1، ABCG2، ZNF16، NR1H3، POLD3، BAG2 و MGST2 بودند که نقش عملکردی در تولید شیر، سنتز و تولید چربی شیر، سنتز و تولید پروتئین شیر و حجم کلسترول شیر داشتند. بررسی QTLهای گزارش شده در مناطق ژنومی کاندیدا نشان داد که این مناطق در ارتباط با تولید و ترکیبات شیر قرار دارند. نیاز به مطالعات پویش کل ژنومی و عملکردی بیشتری جهت تأیید ژن-های کاندیدای شناسایی شده می‌باشد. نتایج این تحقیق می‌تواند در درک سازوکار ژنتیکی کنترل‌کننده صفات تولید و ترکیبات شیر با هدف افزایش تولید شیر روزانه و بهبود ترکیبات آن مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: آماره F_{ST}، بز، ردپای انتخاب، ژن کاندیدا، عملکرد شیر

مقدمه

بزهای نژاد مورسیا-گرانادینا مربوط به جنوب کشور اسپانیا بوده و با رنگ پوشش بدنی سیاه یا قهوه‌ای کامل می‌باشند و به‌طور کلی برای تولید و ترکیبات شیر اصلاح نژاد شده‌اند. به‌طوری‌که تولید شیر در این نژاد به‌ازای هر دوره شیردهی برابر با ۵۳۰ کیلوگرم به‌ترتیب با مقدار چربی و پروتئین ۵/۶ و ۳/۶ درصد می‌باشد (Delgado *et al.*, 2017). در مطالعات قبلی پویش ژنومی مرتبط با بزهای نژاد مورسیانو-گرانادینا که براساس آماره‌های iHS و ROH انجام شده بود، ژن‌های کاندیدای *SYK*، *IL27*، *CCL19*، *CCL21*، *CSN3*، *CSN1S2*، *GLI3*، *MC1R* و *MITF* مرتبط با سیستم ایمنی، تولید و ترکیبات شیر گزارش شده است (Luigi-Guan *et al.*, 2021 ; Sierra *et al.*, 2022).

در حالی‌که نژاد بارکی مورد استفاده در تحقیق حاضر، از نژادهای بز متوسط وزن و ممتاز کشور مصر از نظر صفات تولید گوشت در منطقه بیابانی غرب این کشور است. از ویژگی‌های این نژاد می‌توان به مقاومت در برابر گرما و سرما، شرایط سخت تغذیه‌ای و مراتع ضعیف نام برد (Galal *et al.*, 2005). در مطالعه‌ای با هدف شناسایی مناطق ژنومی تحت انتخاب در نژادهای مختلف بزهای مصری انجام شده است، ژن‌های کاندیدای *SPATA2L*، *TCF25*، *SOX15*، *MC1R*، *KDR* و *KIT* در ارتباط با صفات تولیدمثلی، سازگاری و

۱- استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و محیط زیست، دانشگاه اراک، اراک، ایران.
۲- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و محیط زیست، دانشگاه اراک، اراک، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email: H-mohammadi64@araku.ac.i)
http://doi.org/10.22067/ijasr.2024.87463.1196

تولید در بزهای نژاد بارکی گزارش شد (Sallam *et al.*, 2023).

انتخاب می‌تواند منجر به تغییر فراوانی یک آلل در جمعیت شود، درحالی‌که فراوانی آن در جمعیت‌هایی که تحت انتخاب نبوده‌اند بدون تغییر باقی می‌ماند. نتیجه این حالت، ایجاد تفرق در بین جمعیت‌ها در این مناطق ژنومی است. بنابراین، تفاوت به نسبت زیاد در فراوانی آللی بین جمعیت‌ها نیز می‌تواند به‌عنوان نشانه‌ای از انتخاب مثبت در جایگاه‌های ژنی مربوط به‌شمار آید (Chen et al., 2019). از طرف دیگر، اگر جهش به‌وجود آمده در سطح ژنوم باعث افزایش شایستگی افراد در جامعه شود، انتخاب باعث می‌شود تا افراد با شایستگی بالاتر هدف انتخاب مثبت قرار گرفته و سهم بالاتری در تشکیل نسل بعد داشته باشند. انتخاب‌های مثبت انجام شده روی یک آلل سودمند در طول ژنوم، باعث ایجاد نشانه‌هایی در سطح ژنوم می‌گردد. این نشانه ها عبارتند از ایجاد ساختارهای هاپلوتایپی، افزایش عدم تعادل پیوستگی ژنی، کاهش مکانی تنوع ژنتیکی و انحراف از توزیع فراوانی آللی (Qanbari et al., 2014). متناسب با انواع نشانه‌های انتخاب به‌جا مانده روی ژنوم، ابزارها و روش‌های مختلفی برای شناسایی این نشانه‌ها ارائه شده است. البته با توجه به انتخاب‌های مصنوعی صورت گرفته روی ژنوم دام‌های اهلی در کنار انتخاب طبیعی و نیز عوامل مؤثری از قبیل اندازه مؤثر کوچک‌تر دام‌های اهلی و عدم تعادل پیوستگی ژنی بالاتر این گونه‌ها در مقایسه با انسان، این گونه‌ها نمونه مناسب‌تری برای شناسایی نشانه‌های انتخاب در سطح ژنوم هستند (Rahimmadar et al., 2021). اهلی کردن و به دنبال آن شکل گیری نژادها و انتخاب طبیعی یا مصنوعی باعث ایجاد نشانه‌های انتخاب مثبت در مناطق ژنومی شده است (Cheruiyot et al., 2018).

شناسایی نشانه‌های انتخاب از دو دیدگاه مهم می‌باشند، اول اینکه این نشانه‌ها حاوی اطلاعات ارزشمندی در خصوص تکامل و سازوکارهای مؤثر بر تکامل را فراهم می‌کنند. دوم اینکه جایگاه‌های ژنی شناخته شده و تنوع ژنتیکی صفات کمی آشکار می‌شود. از طرف دیگر، اهلی‌سازی و انتخاب به‌شدت در ویژگی‌های ظاهری و رفتاری حیوانات اهلی امروزی تغییر ایجاد کرده است. در این مسیر، انتخاب های انجام شده توسط انسان نشانه‌های قابل شناسایی را در ژنوم دام-های امروزی به‌جا گذاشته است که آشکار نمودن این نشانه‌ها می‌تواند به اصلاح و بهبود ژنتیکی صفات مهم اقتصادی در این دام‌ها کمک کند (Fleming *et al.*, 2019).

یکی از مهم‌ترین آزمون‌های آماری شناسایی نشانه‌های انتخاب، آماره تمایز جمعیتی یا شاخص تثبیت[1] (F_{ST}) می‌باشد. یکی از مشکلات اصلی این روش لحاظ نکردن خطای نمونه‌گیری است که این مورد با استفاده از روش ناااریب تتا (Theta, θ) تصحیح شده است.

در مطالعه پویش ژنومی با هدف شناسایی نشانه‌های انتخاب مثبت مرتبط با بیماری ورم پستان با استفاده از آماره F_{ST} در نژادهای مختلف گاو شیری انجام شده بود، ژن‌های کاندیدای *DEFB4*، *DEFB7* و *DEFB10* مرتبط با بیماری ورم پستان گزارش شد (Saravanan *et al.*, 2021).

از روش شناسایی نشانه‌های انتخاب جهت شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با صفات تولیدی و تولیدمثلی در نژادهای مختلف بز استفاده شده است. در یک بررسی که با هدف شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با صفات مهم اقتصادی در بزهای نژاد Begait اتیوپی با استفاده از آماره F_{ST} انجام شده بود، ژن‌های کاندیدای *GLYCAM1* و *SRC* مرتبط با تولید شیر و ژن‌های کاندیدای *MAPK13*، *MAPK14*، *SCN7A*، *IL12A*، *EST1* و *DEFB119* مرتبط با سیستم ایمنی گزارش شد (Gebreselase *et al.*, 2024). همچنین در مطالعه پویش ژنومی در بزهای نژاد بومی چینی با هدف شناسایی نشانه‌های انتخاب مثبت، ژن کاندیدای *EPHA6* مرتبط با صفت تعداد نتاج متولد شده و ژن‌های کاندیدای *CDKAL1* و *POMC* مرتبط با سازگاری گزارش شد (Huang *et al.*, 2024).

انتخاب برای صفات مهم اقتصادی مرتبط با تولید شیر در بز طی نسل‌های گذشته می‌تواند منجر به ایجاد نشانه‌های انتخاب در سطح ژنوم شده باشد که بررسی و ردیابی این نشانه‌ها می‌تواند در شناسایی این مناطق و ژن‌های کاندیدای مؤثر بر تولید و ترکیبات شیر مفید باشد. بنابراین، هدف از پژوهش حاضر، شناسایی مناطق ژنومی و ژن های کاندیدای مرتبط با صفات تولید و ترکیبات شیر در بزهای نژاد مورسیانو- گرانادینا و بارکی با استفاده از آماره F_{ST} برای پویش نشانه‌های انتخاب مثبت بود.

مواد و روش

در پژوهش حاضر از اطلاعات ژنوتیپی مجموع ۹۲۳ رأس بزهای غیر خویشاوند اسپانیایی مربوط به نژاد مورسیانو-گرانادینا استفاده گردید. لازم به ذکر است که تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها در دانشگاه بارسلونای کشور اسپانیا انجام شده بود. ژنوتیپ نمونه‌ها در شرکت Neogen GeneSeekدر کشور آمریکا با استفاده از آرایه‌های Illumina OvineSNP50K BeadChipبا به‌کارگیری روش استاندارد شرکت ایلومینا انجام شده بودند. داده‌های مورد استفاده در این پژوهش در پایگاه برخط Figshare (https://doi.org/10.6084/m9.figshare) به شماره دسترسی (v1.۲۱۳۸۹۰۱۳) در دسترس می‌باشد.

همچنین در پژوهش حاضر از اطلاعات ژنوتیپی مجموع ۶۸ رأس بزهای غیر خویشاوند مربوط به نژاد بارکی مصر استفاده گردید. لازم به ذکر است تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها در مرکز بین‌المللی تحقیقات

1- Fixation index

کشاورزی مناطق خشک کشور مصر انجام شده بود. پس از اطمینان از کمیت و کیفیت بالای DNA استخراج شده، نمونه‌ها با استفاده از آرایه‌های شرکت ایلومینا Caprine 50 K SNP Bead Chip برای ۵۳۳۴۷ جایگاه نشانگری تعیین ژنوتیپ شده بودند. داده‌های مورد استفاده در این پژوهش در پایگاه برخط Dryad (https://dryad.com/articles/dataset) به شماره دسترسی (8m1v1) در دسترس می‌باشد.

با توجه به اینکه منبع انتشار دو سری داده متفاوت از هم بودند، قبل از ادغام داده‌ها، ابتدا شناسه‌های منحصربه‌فرد و موقعیت کروموزومی یکسان برای دو سری داده مورد استفاده با استفاده از نرم‌افزار SNPchiMp v.3 تعیین شدند (Nicolazzi *et al.*, 2015). سپس داده‌ها با اطلاعات ژنومی مشترک و با کمک دستور merge– نرم‌افزار PLINK1.9 با هم ادغام شدند.

برای فیلتراسیون داده‌های ژنومی از معیارهای فراوانی نمونه‌های تعیین ژنوتیپ شده، نرخ تعیین ژنوتیپ نشانگرها در هر نمونه و فراوانی آلل نادر (MAF[1]) استفاده شد. در ابتدا نمونه‌هایی که فراوانی تعیین ژنوتیپ در آن‌ها کمتر از ۹۰ درصد بود، شناسایی و حذف شدند. در مرحله بعد، نشانگرهایی که فراوانی آلل نادر در آن‌ها کمتر از پنج درصد بود، حذف شدند. سپس نشانگرهایی که نرخ تعیین ژنوتیپ آن‌ها در نمونه‌ها کمتر از ۹۵ درصد بود، شناسایی و حذف شدند. در نهایت، برای SNPهای باقی‌مانده آن‌هایی که در تعادل هاردی–واینبرگ قرار نداشتند، به‌عنوان معیاری از خطای تعیین ژنوتیپ کنار گذاشته شدند. بدین منظور، سطح احتمال 10^{-6} در نظر گرفته شد. مراحل مختلف فیلتراسیون با استفاده از نرم‌افزار PLINK (نسخه ۱/۹۰) انجام شد (Chang *et al.*, 2015). از مجموع ۵۳۳۴۷ نشانگر SNP به‌کار رفته در این تحقیق، ۴۳۱۷۰ نشانگر مشترک توانستند مراحل مختلف کنترل کیفیت را بگذرانند.

آنالیز مؤلفه‌های اصلی (PCA[2]) پس از گذراندن مراحل کنترل کیفیت داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار PLINK V1.9 محاسبه و گراف مربوط توسط برنامه R نسخه (۴/۲/۲) ترسیم شد تا علاوه‌بر تفکیک نژادها، دام‌هایی که خارج از توده نژادی خود قرار دارند، برای حذف شناسایی شوند.

آنالیز آماری شناسایی نشانه‌های انتخاب

در این پژوهش برای شناسایی نشانه‌های انتخاب مرتبط با تولید و ترکیبات شیر، بزها به دو گروه موردی (مورسیا–گرانادینا) و شاهد (بارکی مصر) دسته‌بندی شدند. سپس برای شناسایی نواحی تحت انتخاب از آزمون تمایز جمعیتی F_{ST} استفاده شد. آزمون تمایز جمعیتی F_{ST} به دو روش رایت (Wright, 1965) و روش برآوردگر ناریب تتا (θ) (Weir and Cockerham, 1984) محاسبه می‌شود. یکی از مشکلات اصلی روش رایت، عدم در نظر گرفتن خطای نمونه‌گیری است که این مشکل توسط ویر و کوکرهام با ارائه روش تتا تصحیح شد که مستقل از شمار گروه‌های نمونه‌گیری شده و شمار افراد داخل هر گروه است. ارزش‌های به‌دست آمده از این روش‌ها بین صفر تا یک متغیر است. محاسبه‌های مربوط به دو روش رایت و تتا در محیط R برنامه‌نویسی شد. با توجه به اینکه انتخاب، علاوه‌بر جهش سودمند جایگاه‌های مجاور آن را هم تحت تأثیر قرار می‌دهد (Akey *et al.*, 2002) بنابراین، جهت شناسایی بهتر نشانه‌های انتخاب در سطح ژنوم، به‌جای در نظر گرفتن ارزش عددی هر SNP، از میانگین‌گیری ارزش‌های عددی SNPهای مجاور به‌روش Creeping Window (CW) با طول ۵۰۰ کیلو جفت باز استفاده شد (Kim *et al.*, 2015) و فقط ۰/۱ درصد مناطقی از ژنوم که در آن، تمام نشانگرهای مجاور ارزش بالایی بودند، به‌عنوان نشانه‌های انتخاب شناسایی و تعیین شدند (Saravanan *et al.*, 2021Kijas *et al.*, 2012 ;). آستانه تعیین شده سختگیرانه بوده و فقط مناطقی از ژنوم که بیشترین تمایز جمعیتی را در بین نژادها را نشان دادند، انتخاب شدند، این حد آستانه در مطالعات مختلف از ۰/۱ درصد (Zhao *et al.*, 2020) تا ۲/۵ درصد (Qanbari *et al.*, 2012) متغیر بوده است. در این تحقیق برای ترسیم گراف ارزش‌های Win10 در مقابل موقعیت ژنومی از بسته نرم‌افزاری ggplot در برنامه R استفاده شد.

بررسی ژن‌های گزارش شده در مناطق ژنومی حاوی نشانه‌های انتخاب

پس از مرتب کردن نشانگرها برپایه ارزش محاسبه شده با استفاده از نرم‌افزار Excel، صدک ۹۹/۹ محاسبه و مناطقی که برای همه نشانگرهای مجاور ارزش بالایی داشتند، به‌عنوان نشانه انتخاب در نظر گرفته شدند. مناطق دارای ارزش بالای تتا می‌توانند نشان‌دهنده مناطقی از ژنوم باشند که در گروه‌های موردی و شاهد به‌صورت متمایز هدف انتخاب قرار گرفته باشند. برای بررسی ژن‌های گزارش شده در این مناطق و ۵۰۰ کیلو جفت‌باز اطراف آن‌ها از پایگاه اطلاعاتی برخط Database Ensembl Genes 111 به‌وسیله BioMart (www.ensembl.org/biomart) مورد بررسی قرار گرفت. برای تفسیر بهتر عملکرد ژن‌های به‌دست آمده از پایگاه‌های اطلاعاتی آنلاین GeneCards (http://www.genecards.org) و UniProtKB (http://www.uniprot.org) استفاده شد.

با توجه به اینکه پایگاه داده QTL ژنوم بز هنوز تکمیل نشده است، لذا از ژنوم گاو جهت بررسی اینکه مناطق ژنومی شناسایی شده

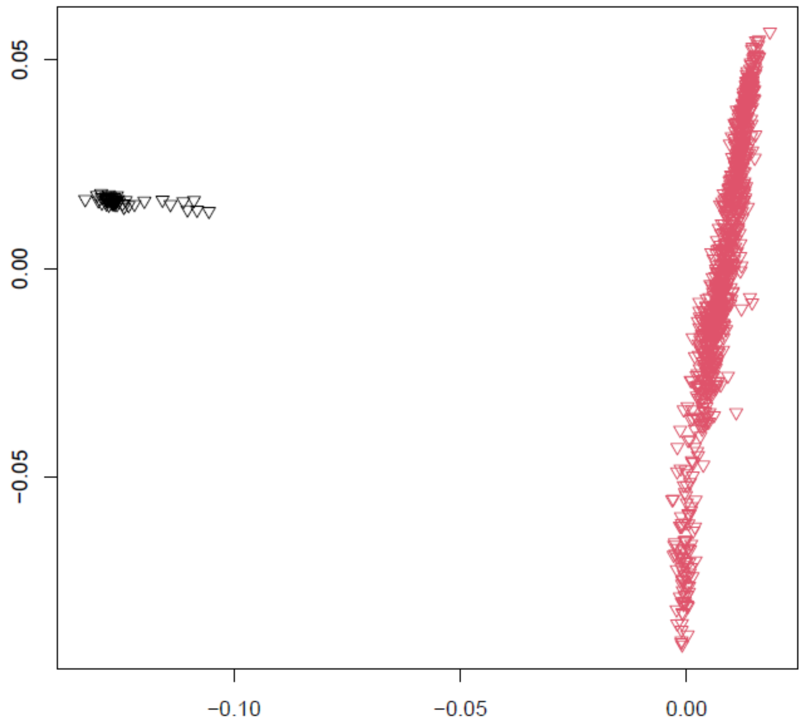
1- Minor Allele Frequency
2- Principal component analysis

حاوی QTL خاصی هستند، در مناطق ارتولوگوس ژنوم گاو به‌وسیله برنامه BioMart مورد بررسی قرار گرفت. در نهایت، برای بررسی اینکه آیا مناطق مورد نظر با QTLهای شناسایی شده هم‌پوشانی دارد یا خیر، از مرکز اطلاعاتی آنلاین QTL (http://i.animalgenome.org/jbrowse/) براساس آخرین نسخه به‌روز شده (Release 52, Dec 27, 2023) استفاده شد.

نتایج و بحث

به‌منظور بررسی نحوه قرار گرفتن حیوانات در گروه‌های نژادی، تجزیه و تحلیل PCA با به‌کارگیری اطلاعات تعیین ژنوتیپی بین نژادهای مورسیانو- گرانادینا و بارکی مصری استفاده شد. نتایج آنالیز PCA براساس PC1 و PC2 نشان داد که این دو نژاد در گروه‌های کاملاً مجزا قرار دارند و در هیچ نقطه‌ای هم‌پوشانی ندارند (شکل ۱).

این PCA در مجموع حدود ۴/۶٪ واریانس (۲/۷ درصد برای ویژه بردار ۱ و ۱/۹ درصد برای ویژه بردار ۲ را توجیه می‌کنند). در مطالعات مختلف دیگر، حیوانات فقط برپایه ویژه بردارهای یک و دو براساس نژاد و منطقه جغرافیایی دسته‌بندی شده‌اند (Kijas *et al.*, 2012; Waineina *et al.*, 2022). در مطالعه‌ای که توسط کیجاز و همکاران (Kijas *et al*. 2012) روی جمعیت‌های گوسفند دنیا انجام شده بود، PC1 و PC2 به‌ترتیب ۲/۹۸ درصد و ۱/۴۴ درصد واریانس را توجیه می‌کردند. در مطالعه پویش ژنومی با هدف شناسایی نشانه‌های انتخاب مرتبط با صفات ذخیره بدن در سه نژاد گوسفندان بومی چینی (Han، Altay و Tibetan)، حیوانات برپایه PC1 و PC2 کاملاً از یکدیگر تفکیک شده و هرکدام از ویژه بردارهای ۱ و ۲ به‌ترتیب ۳/۳ درصد و ۲/۷ درصد از واریانس را توجیه می‌کردند (Zhao *et al.*, 2020).



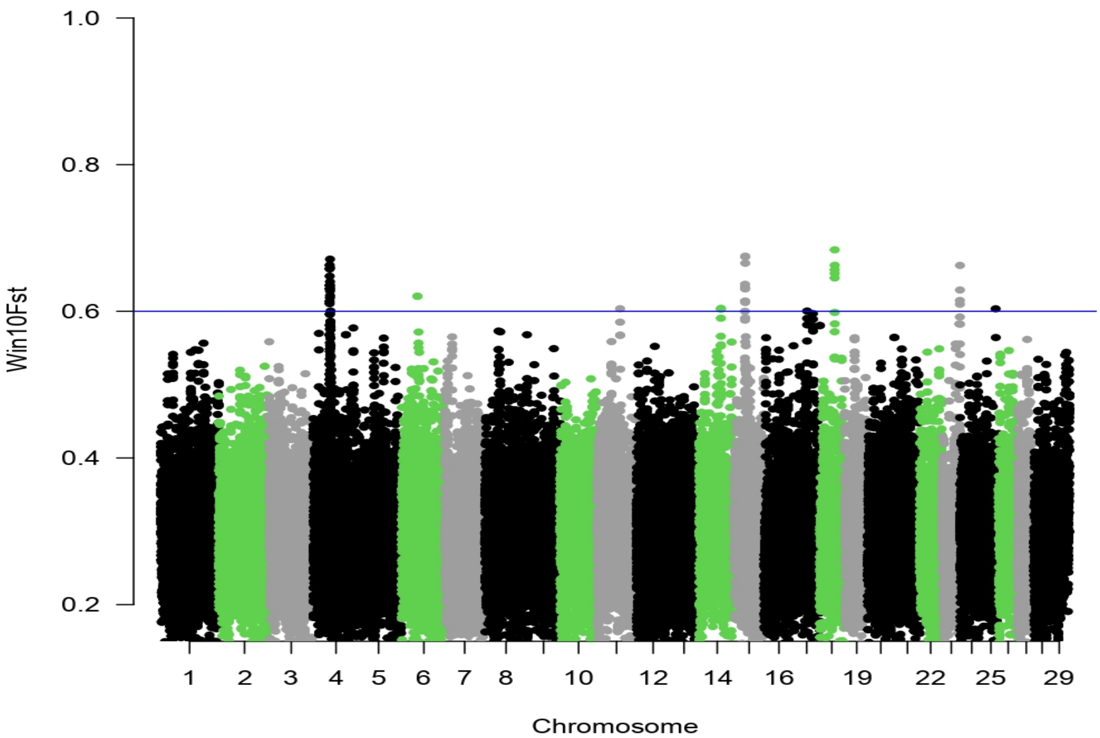
شکل ۱- خوشه‌بندی حیوانات براساس آنالیز PCA با استفاده از اطلاعات ژنوتیپی تمام حیوانات

Figure 1- Animals clustered on the basis of principal components analysis (PCA) using genotyping information animals

بخش‌هایی از ژنوم که ارزش F_{ST} بالایی دارند، نشان‌دهنده تمایز بین دو نژاد مورد بررسی در آن مناطق ژنومی در اثر انتخاب مثبت هستند که به دنبال انتخاب‌های طبیعی و مصنوعی در طی نسل‌های مختلف برای جایگاه‌های مورد نظر به‌وجود آمده است. نتایج به‌دست آمده نشان داد که در چندین منطقه ژنومی SNPهای مجاور، تفرق جمعیتی بالایی داشتند که شامل هفت ناحیه ژنومی بر روی کروموزوم‌های ۴، ۶، ۱۴، ۱۵ (دو نقطه)، ۱۷و ۲۳ بودند و در صدک ۹۹/۹ کل ارزش‌های تتا قرار داشتند و معنی‌دار بودند (شکل ۲).

از روش نشانه‌های انتخاب و آماره تتا تاکنون جهت شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با صفات مهم اقتصادی مختلف در دامهای اهلی استفاده شده است. پژوهشی با هدف شناسایی نشانه‌های انتخاب با ذخیره چربی بدن در گوسفندان بومی چینی انجام شده است. نتایج

تحقیق نشان داد که ۲۵ ناحیه ژنومی حاوی نشانه‌های انتخاب هستند و ژن‌هـــای کاندیـــدای *WDR92*، *TBX12*، *WARS2*، *BMP2*، *VEGFA*، *PDGFD*، *HOXA10*، *ALX4* و *ETAA1* گزارش شدند (Zhao *et al.*, 2020). همچنین در پژوهشی که بـا هـدف شناسـایی نشانه‌های انتخاب مرتبط با سازگاری و پاسخ سیستم ایمنـی، تولیـد و تولیدمثل در نژادهای مختلف بز انجام شده بود، نتـایج نشـان داد کـه نـواحی ژنـومی روی کرومـوزوم‌هـای ۳، ۴، ۱۰، ۱۵، ۲۲ و ۲۶ دارای نشانه‌های انتخاب هستند. این مناطق ژنومی شامل ژن‌های کاندیدای *HYAL1*، *PDE4B*، *MST1* و *PCK* بودنـد کـه نقـش کلیـدی در سازگاری، سیستم ایمنـی و تولیـد شـیر داشـتند (Waineina *et al.*, 2022).



شکل ۲- توزیع ارزش‌های win10 تتا در سطح ژنوم حیوانات نژادهای بز مورسیانو- گرانادینا و بارکی. موقعیت ژنومی SNPها روی محور X و ارزش‌های تتای آن‌ها روی محور Y نشان داده شده است. خط ترسیم شده نشان‌دهنده ۹۹/۹ صدک کروموزوم‌ها است

Figure 2- Distribution of 10 windowed theta values in Murcia-Grenadian and Barki breed: the SNP position on different chromosomes shown on the X-axis, and theta values are plotted on the Y-axis. The values above the line are in the 99.9 percentile of all Theta values

پس از شناسایی نواحی ژنومی تحت انتخاب، ژن‌هـای موجـود در این مناطق شناسایی و عملکرد بیوشیمیایی آن‌هـا بررسـی شـدند، در مجموع ۹۹ ژن که در ارتباط با منطقه انتخابی بودنـد از ایـن طریـق تعیـین شـدند (جـدول ۱). ژن‌هـای مشـخص شـده در جـدول ۱ عملکردهای متفاوتی در تولیـد شـیر، چربـی، پـروتئین شـیر و حجـم کلسترول شیر داشتند که می‌توانند به‌طور مستقیم و غیـر مسـتقیم بـا صفات تولید و ترکیبات شیر مرتبط باشند.

اولین منطقه ژنومی شناسایی شده مرتبط با تولید و ترکیبات شـیر روی کرومـوزوم شـماره ۴ در ناحیـه ۴۴/۴۱-۴۳/۴۱ مگابـازی قـرار داشـت. از بـین ژن‌هـای موجـود در ایـن ناحیـه، ژن‌هـای کاندیـدای *IGFBP3* و *ADCY1* بیشترین ارتبـاط را بـا تولیـد و ترکیبـات شـیر داشتند. ژن *IGFBP3* نقش کلیدی در رشد و توسعه غـدد پسـتانی و همچنین در سوخت‌وساز لیپیدها داشـته اسـت (Kim *et al.*, 2013). پروتئین باند شونده تیپ ۳ به‌عنوان حامـل IGF عمـل کـرده و نیمـه عمر آن نسبت به سایر پروتئین‌های حامـل طـولانی‌تـر مـی‌باشـد، در سطح سلولی IGFBPها می‌توانند سـبب فعـال یـا غیـر فعـال شـدن فعالیت بیولوژیکی هورمون IGF شوند (Varma Shrivastav *et al.*, 2020). در مطالعه قبلی پویش ژنومی با هدف شناسـایی نشـانه‌هـای

انتخاب در بزهای نژاد مورسیانو- گرانادینا با استفاده از آماره iHS، یک ناحیه ژنومی روی کروموزوم ۴ در منطقه ۴۹/۹۵-۴۱/۸۰ مگابازی شناسایی شده بود که ژن کاندیدای *IGFBP3* در این ناحیه قرار داشت (Guan *et al.*, 2021). در مطالعه پویش ژنومی با هدف شناسایی بیان ژن‌های کاندیدای اصلی مرتبط با تولید شیر در نژادهای مختلف بز، ژن کاندیدای *ADCY1* گزارش شده است (Salgado Pardo *et al.*, 2022). ژن *ADCY1* نقش اساسی در تنظیم آزادسازی هورمون رشد در بدن و تنظیم پاسخ سلولی به یون کلسیم دارد. همچنین در مطالعه پویش ژنومی با هدف شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با سلامت پستان، ژن *ADCY1* گزارش شده است (Pegolo *et al.*, 2020).

دومین منطقه ژنومی شناسایی شده در پژوهش حاضر در ناحیه ۳۶/۴۸-۳۷/۴۸ مگابازی کروموزوم شماره ۶ قرار داشت. از بین ژن های موجود در این ناحیه، ژن کاندیدای *ABCG2* بیشترین ارتباط را با تولید و ترکیبات شیر داشت. ژن *ABCG2* یک انتقال‌دهنده پروتئینی در سطح غشاء سلولی می‌باشد که نقش عمده آن، انتقال مواد به‌ویژه چربی‌ها به داخل و خارج سلول‌ها است. با توجه به نقش *ABCG2* در انتقال چربی‌ها از خون به داخل شیر و همچنین مطالعات QTL صفات تولید شیر، *ABCG2* می‌تواند به‌عنوان یک ژن کاندیدا مرتبط با صفات تولید شیر در بزهای نژاد شیری در نظر گرفته شود. در مطالعه‌ای با بررسی چندشکلی موجود در ژن *ABCG2* با تولید شیر در گاوهای هلشتاین چینی، ارتباط معنی‌داری بین چند شکلی (A/C) در اگزون ۷ با مقدار و درصد پروتئین شیر گزارش شده است (Alim *et al.*, 2013). در مطالعه پویش ژنومی با هدف شناسایی مناطق ژنومی تحت انتخاب در نژادهای مختلف بز ژن کاندیدای *ABCG2* گزارش شده است (Bertolini *et al.*, 2018).

سومین ناحیه ژنومی شناسایی شده روی کروموزوم شماره ۱۴ در ناحیه ۸۱/۱۶-۸۲/۱۶ مگابازی قرار داشت. از بین ژن‌های موجود در این منطقه، ژن کاندیدای *ZNF16* بیشترین ارتباط با تولید شیر داشت. در مطالعه پویش ژنومی با هدف شناسایی ژن‌های کاندیدای مرتبط با تولید شیر در بزهای نژاد شیری سانن و آلپاین، ژن کاندیدای *ZNF16* گزارش شده است (Massender *et al.*, 2022). ژن *ZNF16* روی کروموزوم شماره ۱۴ در ناحیه ۸۱/۶۵ مگابازی قرار داشته و در تفرق سلولی نقش دارد (Li *et al.*, 2011). همچنین ارتباط معنی‌داری بین ژن *ZNF16* با مقدار چربی شیر گزارش شده است (Scholtens *et al.*, 2020).

چهارمین منطقه ژنومی روی دو ناحیه مختلف کروموزوم شماره ۱۵ در نواحی ۶/۳۴-۵/۳۴ و ۲۹/۵۸-۲۸/۵۸ مگابازی شناسایی شد. از بین ژن‌های موجود در این نواحی، ژن‌های کاندیدای *NR1H3* و *POLD3* بیشترین ارتباط را داشتند. در مطالعه پویش ژنومی با هدف شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با حجم کلسترول شیر گاو، ژن کاندیدای *NR1H3* گزارش شده است (Do *et al.*, 2018). میزان سطح بیان ژن *NR1H3* در اوایل دوره شیردهی ارتباط معنی‌داری با حجم میزان کلسترول شیر دارد (Kessler *et al.*, 2014). این ژن نقش واسطه‌ای در تنظیم بیان ژن‌های مرتبط با سوخت‌وساز اسیدهای چرب و کلسترول دارد و نقش آن در تولید پروفایل اسیدهای چرب شیر اثبات شده است (Yao *et al.*, 2016). همچنین در مطالعه ژنومی با هدف شناسایی ژن‌های کاندیدای مرتبط با تولید شیر در گاومیش‌های رودخانه‌ای، ژن *POLD3* گزارش شده است (Du *et al.*, 2018). ژن کاندیدای *POLD3* نقش کلیدی در تولید و سنتز کازئین شیر مربوط به بخش α_{s1} دارد (Ollier *et al.*, 2008).

منطقه ژنومی دیگر مرتبط با تولید و سنتز ترکیبات شیر در ناحیه ۵۲/۰۶-۵۳/۰۶ مگابازی از کروموزوم شماره ۱۷ شناسایی شد. ژن کاندیدای *MGST2* در این ناحیه قرار داشت. در مطالعه قبلی پویش ژنومی در گاوهای شیری ارتباط معنی‌داری بین سوخت‌وساز اسیدهای چرب شیر با ژن کاندیدای *MGST2* گزارش شده است (Gebreyesus *et al.*, 2019).

آخرین منطقه ژنومی مهم دیگری که در پژوهش حاضر مرتبط با تولید و ترکیبات شیر شناسایی شد، ژن کاندیدای *BAG2* در ناحیه ۴۵/۱۵-۴۶/۱۵ مگابازی از کروموزوم شماره ۲۳ بود. در مطالعه پویش ژنومی با هدف شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با ترکیبات شیر در بزهای نژاد Karachai، ژن کاندیدای *BAG2* گزارش شده است (Selionova *et al.*, 2024). ژن *BAG2* نقش کلیدی در فرآیندهای سوخت‌وساز پروتئین شیر، انتقال لیپید و هموستازی یون کلسیم دارد (Genecards).

بررسی QTLهای شناسایی شده در مناطق ژنومی مورد نظر نشان داد که روی کروموزوم‌های ۴، ۶، ۱۴، ۱۵، ۱۷ و ۲۳ QTLهای گزارش شده مرتبط با صفات مهم اقتصادی تولید شیر، تولید چربی، درصد چربی شیر و درصد بتا و کاپا کازئین پروتئین شیر بود (جدول ۱).

با توجه به عملکرد بیولوژیکی ژن‌های کاندیدا شناسایی شده مرتبط با صفات تولید و ترکیبات شیر در این پژوهش، به نظر می‌رسد که این ژن‌ها در بروز فنوتیپی صفت تولید شیر نقش ایفاء می‌کنند، در نتیجه می‌توان کارآیی آزمون آماری F_{ST} برای شناسایی مناطق ژنومی تحت انتخاب مثبت صفات مهم اقتصادی را نیز مورد تأیید قرار داد. همچنین با بررسی چند شکلی موجود در ژن‌های کاندیدای شناسایی شده مرتبط با صفات تولید و ترکیبات شیر از طریق مطالعات آزمایشگاهی مانند PCR-RFLP و PCR-SSCP در نژادهای بز بومی و در صورت تأیید، نتایج به‌دست آمده را برای مطالعات اصلاحی به‌کار برد.

جدول ۱- نواحی ژنومی تحت انتخاب و ژن‌های شناسایی شده در این مناطق ژنومی مرتبط با تولید و ترکیبات شیر

Table 1- Genomic regions containing selection signatures related to milk and composition traits, and genes (QTL) reported in these genomic regions

شماره کروموزوم Number of chromosome	موقعیت ژنومی (جفت باز) Genomic position (bp)	ژن‌های موجود در ناحیه ژنومی Reported genes in the region	QTLهای موجود در ناحیه ژنومی Reported QTLs in the region	شماره دسترسی در پایگاه ID PubMed
4	43410051: 44410051	*OGDH, ZMIZ2, H2AZ2, MIR4657, PURB, MYO1G, SNORA9, TBRG4, SNORA5A, SNORA5C, RAMP3, ADCY1, IGFBP1, IGFBP3*	*Milk beta-casein percentage*	*28923017*
6	36487612:37487612	*FAM13A, HERC3, NAP1L5, PYURF, HERC5, HERC6, PPM1K, ABCG2, PKD2, SPP1, MEPE, IBSP*	*Milk fat percentage*	*27760518*
14	81163134: 82163134	*MFSD3, RECQL4, LRRC14, LRRC24 C8orf82, ARHGAP39, COMMD5, ZNF7, RPL8, ZNF34, C8orf33, ZNF16, ZNF250, PHF3*	*305-day milk yield*	*26193888*
15	28585579: 29585579	*SLCO2B1, OR2AT4, NEU3, SPCS2, XRRA1, RNF169, CHRDL2, LIPT2, KCNE3, PGM2L1, P4HA3, PPME1 C2CD3, UCP3, POLD3*	-	-
15	5347864:6347864	*NUP160, FNBP4, AGBL2, MTCH2, C1QTNF4, FAM180B, NDUFS3, KBTBD4, PTPMT1, CELF1, RAPSN, PSMC3, SLC39A13, SPI1, MYBPC3, MADD, NR1H3, ACP2, DDB2, PACSIN3, ARFGAP2, CSTPP1, U6, LRP4, CKAP5, SNORD67, ZNF408, ARHGAP1*	*Milk yield, Milk fat yield*	*22449276*
17	52068411:53068411	*U6, NOCT, ELF2, MGARP, NDUFC1 NAA15, RAB33B, SETD7, MGST2, MAML3*	*Milk yield, Milk fat percentage*	*21831322*
23	45158314: 46158314	*DST, BEND6, ZNF451, BAG2, RAB23, U6*	*Milk kappa-casein percentage*	*27485317*

البته به‌دلیل اطلاعات ناقص مربوط به عملکرد ژن‌ها در گونه بز و همچنین کوچک بودن جمعیت مورد استفاده در این مطالعه، مطالعات گسترده‌تر با تعداد نمونه‌های بیشتر و تجزیه و تحلیل چند جمعیت جداگانه، ادغام داده‌های تحقیقات مشابه جدید و استفاده از آنالیزهای آماری جامع‌تر درک بهتری از ژن‌های کاندید برای صفات تولید و ترکیبات شیر در جمعیت بز ایجاد خواهد کرد. با توجه به اهمیت پرورش بز در ایران و جهان، افزایش اطلاعات در این زمینه تأثیر مناسبی بر طراحی برنامه‌های اصلاح نژادی و افزایش بهره‌وری جمعیت بزهای کشور خواهد داشت. در مجموع، نتایج این تحقیق می‌تواند منابع اطلاعاتی با ارزشی در جهت شناسایی ژن‌های متمایزکننده و شناسایی نواحی ژنومی کاندید برای بسیاری از صفات مهم اقتصادی فراهم آورد. همچنین از اطلاعات این تحقیق می‌توان در تحقیقات مرتبط با انتخاب ژنومی، طراحی سیستم‌های آمیزشی و مطالعات تکمیلی استفاده نمود.

نتیجه‌گیری کلی

در این مطالعه برای شناسایی نشانه‌های انتخاب مثبت از آماره F_{ST} استفاده شد و نشانه‌های انتخاب در بخش‌هایی از ژنوم شناسایی شد که برخی از این مناطق در بررسی‌های پیشین در بز و دام‌های اهلی دیگر نیز تأیید شده بودند. بررسی ژن‌ها در نواحی تحت انتخاب نشان داد که ژن‌های موجود در این مناطق با تولید شیر، چربی و پروتئین شیر مرتبط هستند. در مجموع، نتایج این تحقیق می‌تواند منبع اطلاعاتی با ارزشی در جهت شناسایی ژن‌های مرتبط با تولید و ترکیبات شیر ارائه دهد و آغازی برای بررسی‌های بیشتر در این زمینه

و استفاده از اطلاعات به‌دست آمده در شناسایی ویژگی‌هـای ژنتیکـی
این صفت مهم اقتصادی در صنعت پروش بز باشد.

References

1. Akey, J. M., Zhang, G., Zhang, K., Jin, L., & Shriver, M. D. (2002). Interrogating a high-density SNP map for signatures of natural selection. *Genome Research*, *12*(12), 1805-1814. http://doi.org/10.1101/gr.631202.
2. Alim, M. A., Xie, Y., Fan, Y., Wu, X., Sun, D., Zhang, Y., Zhang, S., Zhang, Y., Zhang Q., & Liu, L. (2013) Genetic effects of ABCG2 polymorphism on milk production traits in the Chinese Holstein cattle. *Journal of Applied Animal Research*, *41*(3), 333-338. http://dx.doi.org/10.1080/09712119.2013.782873
3. Bertolini, F., Servin, B., Talenti, A., Rochat, E., Kim, E., Oget, C., Palhiere, I., Crisa, A., Catillo, G., & Steri, R. (2018). Signatures of selection and environmental adaptation across the goat genome post-domestication. *Genetic Selection Evolution*, *50*, 57. http://doi.org/10.1186/s12711-018-0421-y.
4. Chang, C. C., Chow, C. C., Tellier, L. C., Vattikuti, S., Purcell, S. M., & Lee J. J. (2015). Second-generation PLINK: Rising to the challenge of larger and richer datasets. *Gigascience*, *4*, 7. http://dx.doi.org/10.1186/s13742-015-0047-8.
5. Cheruiyot, E. K., Bett, R. C., Amimo, J. O., Zhang Y., Mrode, R., & Mujibi, F. D. N. (2018). Signatures of selection in admixed dairy cattle in Tanzania. *Frontiers in Genetics*, *9*, 607. http://doi.org/10.3389/fgene.2018.00607.
6. Chen, L., Wang, X., Cheng, D., Chen, K., Fan, Y., Wu, G., You, J., Liu, S., & Ren, J. (2019). Population genetic analyses of seven Chinese indigenous chicken breeds in a context of global breeds. *Animal Genetics*, *50*, 82–86. http://doi.org/10.1111/age.12732.
7. Delgado, J. V., Landi, V., Barba, C. J., Fern´andez, J., G´omez, M. M., Camacho, M. E., Martı´nez, M. A., Navas, F. J., & Le´on, J. M. (2017). Murciano-Granadina Goat: A Spanish local breed ready for the challenges of the twenty-first century. In: Sustainable Goat Production in Adverse Environments: Volume II: Local Goat Breeds (J. Sim˜oes and C. Guti´errez eds), pp. 205–19. Springer International Publishing, Cham, Switzerland.
8. Do, D. N., Schenkel, F. S., Miglior, F., Zhao, X., & Ibeagha-Awemu, E. M. (2018). Genome wide association study identifies novel potential candidate genes for bovine milk cholesterol content. *Scientific Reports*, *8*(1), 13239. http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-31427-0.
9. Du, C., Deng, T., Zhou, Y., Ye, T., Zhou, Z., Zhang, S., Shao, B., Wei, P., Sun, H., Khan, F. A, Yang, L., & Hua G. (2019). Systematic analyses for candidate genes of milk production traits in water buffalo (Bubalus Bubalis). *Animal Genetics*, *50*(3), 207-216. http://dx.doi.org/10.1111/age.12739.
10. Fleming, D. S., Weigend, H., Simianer, A., Weigend, M., Rothschild, C., Schmidt, C., Ashwell, M., Persia, J., & Lamont, S. (2017). Genomic comparison of indigenous African and Northern European chickens reveals putative mechanisms of stress tolerance related to environmental selection pressure. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 7(5), 1525-1537. http://doi.org/10.1534/g3.117.041228.
11. Galal, S., Abdel-Rasoul, F., Shaat, I., & Anous M. (2005). On-station characterizationof small ruminant breeds in Egypt. Characterization of Small Ruminant Breeds in West Asia and North Africa. Luis Inigez, editor. Aleppo.
12. Gebreselase, H. B., Nigussie, H., Wang, C., & Luo, C. (2024). Genetic diversity, population structure and selection signature in begait goats revealed by whole-genome sequencing. *Animals*, *14*, 307. https://doi.org/10.3390/ani14020307.
13. Gebreyesus, G., Buitenhuis, A. J., Poulsen, N. A., Visker, M., Zhang, Q., & Van Valenberg, H. J. F. (2019). Multi-population GWAS and enrichment analyses reveal novel genomic regions and promising candidate genes underlying bovine milk fatty acid composition. *BMC Genomics*, *20*, 178. http://dx.doi.org/10.1186/s12864-019-5573-9.
14. Guan, D., Martínez, A., Luigi-Sierra, M. G., Delgado, J. V., Landi, V., Castelló, A., Fernández Álvarez, J., Such, X., Jordana, J., & Amills, M. (2021). Detecting the footprint of selection on the genomes of Murciano-Granadina goats. *Animal Genetics*, *52*(5), 683-693. http://dx.doi.org/10.1111/age.13113. Epub 2021 Jul 1.
15. Huang, C., Zhao, Q., Chen, Q., Su, Y., Ma, Y., Ye, S., & Zhao, Q.(2024). Runs of homozygosity detection and selection signature analysis for local goat breeds in Yunnan, China. *Genes*, *15*, 313 https://doi.org/10.3390/genes1503031
16. Kessler, E., Gross, J., Bruckmaier, R., & Albrecht, C. (2014). Cholesterol metabolism, transport, and hepatic regulation in dairy cows during transition and early lactation. *Journal of Dairy Science*, *97*, 5481–5490, https://doi.org/10.3168/jds.2014-7926.
17. Kim, H., Song, K. D., Kim, H. J., Park, W., Kim, J., & Lee, T. (2015). Exploring the genetic signature of body size in Yucatan miniature Pig. *PLoS One*, *10*, 4e0121732. http://doi.org/10.1371/journal.pone.0121732.
18. Kim, H. S. (2013) Role of insulin-like growth factor binding protein-3 in glucose and lipid metabolism. *Annals of Pediatric Endocrinology and Metabolism*, *18*, 9–12. http://doi.org/10.6065/apem.2013.18.1.9. Epub 2013 Mar 31.

19. Kijas, J. W., Lenstra, J. A., Hayes, B., Boitard, S., Porto Neto, L. R., San Cristobal, M., Servin, B., McCulloch, R., Whan, V., McEwan, J., & Dalrymple, B. (2012). International sheep genomics consortium members. Genome-wide analysis of the world's sheep breeds reveals high levels of historic mixture and strong recent selection. *PLoS Biological*, *10*(2), e1001258. http://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001258. Epub 2012 Feb 7.
20. Li, X. B., Chen, J., Deng, M. J., Wang, F., Du, Z. W., & Zhang, J. W. (2011). Zinc finger protein HZF1 promotes K562 cell proliferation by interacting with and inhibiting INCA1. *Molecular Medicine Reports*, *4*, 1131–1137. https://doi.org/10.3892/mmr.2011.564.
21. Luigi-Sierra, M. G., Fernández, A., Martínez, A., Guan, D., Delgado, J. V., Álvarez, J. F., Landi, V., Such, F. X., Jordana, J., Saura, M. & Amills, M. (2022). Genomic patterns of homozygosity and inbreeding depression in Murciano-Granadina goats. *Journal of Animal Science Biotechnology*, 13(1), 35. http://doi.org/10.1186/s40104-022-00684-5.
22. Massender, E., Oliveira, H. R., Brito, L. F., Maignel, L., Jafarikia, M., Baes, C. F., Sullivan, B., & Schenkel, F. S. (2023). Genome-wide association study for milk production and conformation traits in Canadian Alpine and Saanen dairy goats. *Journal of Dairy Science*, *106*(2), 1168-1189. http://dx.doi.org/10.3168/jds.2022-22223.
23. Nicolazzi, E. L., Caprera, A., Nazzicari, N., Cozzi, P., Strozzi, F., & Lawley, C. (2015). SNPchiMp v. 3: integrating and standardizing single nucleotide polymorphism data for livestock species. *BMC Genomics*, *16*, 283. http://doi.org/10.1186/s12864-015-1497-1.
24. Ollier, S., Chauvet, S., Martin, P., Chilliard, Y., & Leroux, C. (2008). Goat's αS1-casein polymorphism affects gene expression profile of lactating mammary gland. *Animal*, *2*(4), 566-73. http://dx.doi.org/10.1017/S1751731108001584.
25. Pegolo, S., Momen, M., Morota, G., Rosa, G. J. M., Gianola, D., Bittante, G., & Cecchinato, A. (2020). Structural equation modeling for investigating multi-trait genetic architecture of udder health in dairy cattle. *Scientific Reports*, *10*(1), 7751. http://dx.doi.org/10.1038/s41598-020-64575-3.
26. Qanbari, S., Strom, T. M., Haberer, G., Weigend, S., Gheyas, A. A., Turner, F., Burt, D. W., Preisinger, R., Gianola, D., & Simianer, H. (2012). A high-resolution genome-wide scan for significant selective sweeps: An application to pooled sequence data in laying chickens. *PLoS One*, *7*(11), e49525. http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0049525.
27. Qanbari, S., Pausch, H., Jansen, S., Somel, M., Strom, T.M., Fries, R., Nielsen, R. & Simianer, H. (2014). Classic selective sweeps revealed by massive sequencing in cattle. *PLoS Genetics*, *10*(2), e1004148. http://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004148.
28. Rahimmadar, S., Ghaffari, M., Mokhber, M., & Williams J. L. (2021). Linkage disequilibrium and effective population size of buffalo populations of Iran, Turkey, Pakistan, and Egypt using a medium density SNP array. *Frontiers in Genetics*, *12*, 608186. http://doi.org/10.3389/fgene.2021.608186.
29. Saravanan, K. A., Panigrahi, M., Kumar, H., Parida, S., Bhushan, B., Gaur, G. K., Dutt, T., Mishra, B. P., & Singh, R. K. (2021). Genomic scans for selection signatures revealed candidate genes for adaptation and production traits in a variety of cattle breeds. *Genomics*, *113*(3), 955-963. http://doi.org/10.1016/j.ygeno.2021.02.009. Epub 2021 Feb 19.
30. Salgado Pardo, J. I., Delgado Bermejo, J. V., González Ariza, A., León Jurado, J. M., Marín Navas, C., Iglesias Pastrana, C., Martínez Martínez, M. D. A., & Navas González, F. J. (2022). Candidate genes and their expressions involved in the regulation of milk and meat production and quality in goats (*Capra hircus*). *Animals*, *12*, 988. https://doi.org/10.3390/ani12080988.
31. Sallam, A. M., Reyer, H., Wimmers, K., Bertolini, F., Aboul-Naga, A., Braz, C. U. & Rabee, A. E. (2023). Genome-wide landscape of runs of homozygosity and differentiation across Egyptian goat breeds. *BMC Genomics*, 24(1), 573. http://doi.org/10.1186/s12864-023-09679-6.
32. Selionova, M., Trukhachev, V., Aibazov, M., Sermyagin, A., Belous, A., Gladkikh, M., & Zinovieva, N. (2024). Genome-wide association study of milk composition in Karachai goats. *Animals*, *14*, 327. https://doi.org/10.3390/ani14020327
33. Scholtens, M., Jiang, A. Smith, A., Littlejohn, M., Lehnert, K., Snell, R., Lopez-Villalobos, N., Garrick, D., & Blair, H. (2020). Genome-wide association studies of lactation yields of milk, fat, protein and somatic cell score in New Zealand dairy goats. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, *11*, 55. https://doi .org/10.1186/s4010402000453-2.
34. Varma Shrivastav, S., Bhardwaj, A., Pathak, K. A., & Shrivastav, A. (2020). Insulin-like growth factor binding protein-3 (IGFBP-3): Unraveling the role in mediating IGF-independent effects within the cell. *Frontiers in Cell Development Biology*, *8*, 286. http://dx.doi.org/10.3389/fcell.2020.00286.
35. Weir, B. S., & Cockerham, C. C. (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, *38*(6), 1358-1370. http://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1984.tb05657.x.
36. Waineina, R. W., Okeno, T. O., Ilatsia, E. D., & Ngeno, K. (2022). Selection signature analyses revealed genes associated with adaptation, production, and reproduction in selected goat breeds in Kenya. *Frontiers in Genetics*, *13*, 858923. http://dx.doi.org/ 10.3389/fgene.2022.858923

37. Wright, S. (1965). The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*, *1*, 395-420.
38. Yao, D., Luo, J., He, Q., Xu, H., Li, J., Shi, H., Wang, H., Chen, Z., & Loor, J. (2016). Liver X receptor _ promotes the synthesis of monounsaturated fatty acids in goat mammary epithelial cells via the control of stearoyl-coenzyme A desaturase 1 in an SREBP-1-dependent manner. *Journal of Dairy Science*, *99*, 6391–6402. http://doi.org/10.3168/jds.2016-10990. Epub 2016 May 18.
39. Zhao, F., Deng, T., Shi, L., Wang, W., Zhang, Q., Du, L., & Wang, L. (2020). Genomic scan for selection signature reveals fat deposition in Chinese indigenous sheep with extreme tail types. *Animals (Basel)*, *10*(5), 773. http://dx.doi.org/10.3390/ani10050773.